

② 343~347

动物学研究 2000, Oct. 21 (5): 343~347
Zoological Research

CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853

Zn^{2+} 对中华绒螯蟹溞状幼体肝胰腺超微结构的影响

成永旭

(上海水产大学农业部水产增殖生态和生理重点实验室 上海 200090 yxcheng@shfu.edu.cn)

徐兆礼[✓] 陈亚瞿

(中国水产科学院东海水产研究所 上海 200090)

X522.032.2

X171.5

摘要: 研究了不同 Zn^{2+} 浓度对中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 溞状幼体肝胰腺细胞超微结构的影响。当 Zn^{2+} 浓度超过 $200 \mu\text{g/L}$ 时, 与对照组相比, 肝胰腺结构受到了显著的影响。成熟和正在形成的 B 细胞的空泡中有很多含有金属的电子致密颗粒 (EDG, 可能为金属蛋白复合体), 随着 B 细胞的成熟和 B 细胞从肝胰腺管壁上脱落, 这些 EDG 也被释放到管腔中, 因此肝胰腺的管腔中常有此颗粒存在。B 细胞空泡或管腔中的 EDG 与环境中 Zn^{2+} 浓度高低呈正相关。E 细胞质中也出现了很多空泡, 与正常 E 细胞的结构明显不同。R 细胞的细胞质常解体形成大的空泡, 被破坏的程度较为严重。在 Zn^{2+} 浓度 $> 1000 \mu\text{g/L}$ 时, 肝胰腺遭到严重破坏, 细胞结构几乎不存在。研究结果表明, 肝胰腺的 B 细胞在 Zn^{2+} 的解毒方面起重要作用, 但当 Zn^{2+} 浓度超过了肝胰腺 B 细胞的解毒能力时, 就会引起肝胰腺细胞 (如 R 和 E 细胞) 结构异常, 甚至破坏整个肝胰腺细胞结构, 从而影响幼体的生长, 甚至造成死亡。

溞状幼体

关键词: 中华绒螯蟹; 幼体; Zn^{2+} ; 超微结构; 毒理; 肝胰腺

中图分类号: Q959.223 文献标识码: A 文章编号: 0254-5853(2000)05-0343-05

~~重金属污染~~

锌污染

由于人为和自然因素的影响, 一般河口和海洋沿岸地区重金属污染十分严重 (Saager 等, 1997; Wong, 1993)。因而近年来重金属对水生生物的影响和毒理作用的研究受到广泛重视。而在长江口开展深水航道疏浚工程, 会导致悬浮物增加和泥沙中重金属的溶出, 有可能对长江口广大区域的中华绒螯蟹资源造成一定影响。据测定, 长江口水底沉积物中的金属锌的含量严重超标。在疏浚作业时会重新悬扬起这些沉积物, 致使重金属锌大量溶出。基于此, 本研究应用室内模拟实验, 探索 Zn^{2+} 对中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 溞状幼体期肝胰腺细胞结构的影响。

1 材料和方法

本实验根据长江口沉积物重金属 Zn 含量情况, 按照可能溶出 Zn^{2+} 含量的最大溶出范围, 在基淮纯净海水中 ($31.8 \mu\text{g/L Zn}^{2+}$) 添加分析纯 $ZnSO_4$, 配制成 Zn^{2+} 浓度不同的海水, 分别为 31.8、

121.8、197.8、339.8、601.8、1031.8 $\mu\text{g/L}$ 。

溞Ⅳ期和大眼幼体取自上海市奉贤柘林东海研究所育苗场。整个实验期间一直保持给幼体充氧, 并提供充足的饵料。所有实验在 100 mL 的小烧杯中进行, 每一个浓度组设 4~5 个重复组, 每组放 10~15 只幼体。选择有活力, 常在容器表面游泳的个体作为实验用幼体。每天定期更换相应 Zn^{2+} 浓度的海水。定期按 2、4、8、16、24、48、72、96 h 观察幼体的死亡情况。

试验结束后分别将对照组, Zn^{2+} 浓度组 339.8、601.8 和 1031.8 $\mu\text{g/L}$ 内活的溞Ⅳ幼体立即放入含 2.5% 的戊二醛缓冲溶液中, 4 h 后用 0.1% 的磷酸缓冲溶液冲洗, 再用 1% 的锇酸后固定, 然后按常规梯度酒精脱水, 包埋, LKB-2088 超薄切片机切片, JEM-100CXII 透射电镜观察 (由于溞状幼体的肝胰腺比较小, 切片时要注意定位在眼之后、背棘之前)。每一浓度切片组观察的幼体数 (样品数) 均为 3 个。

收稿日期: 2000-03-03; 修改稿收到日期: 2000-05-26

基金项目: 国家自然科学基金 (39900112) 和交通部长江口深水航道建设有限公司资助

2 结果

电镜观察表明: 对照组蚤Ⅳ肝胰腺细胞由 4 种细胞组成, 其各种细胞的结构类似于其他虾蟹类正常肝胰腺细胞的结构, 即 E 细胞是一种未分化的细胞, 特点是核质比值较高 (图版 I 1), 细胞质中线粒体 (m) 一般较大 (最大直径 $1.5 \mu\text{m}$) (图版 I 2), 且线粒体嵴少, 短, 因而线粒体中部区域近似空泡状 (图版 I 1)。在细胞质中偶尔还可见到具单细胞膜的自噬泡 (v) (图版 I 2), 说明这些 E 细胞可能已经开始分化。R 细胞的作用是吸收和储存营养物质。未成熟和成熟的 R 细胞 (有脂肪滴存在) 的共同特点是, 在细胞质中线粒体较为丰富, 线粒体嵴多, 其他大部分细胞质区域充满了丰富的多聚核糖体颗粒 (图版 I 3)。R 细胞间或 R 细胞和 F 细胞间连接紧密, 但可见与 B 细胞的间隙连接, 这种连接有利于 B 细胞在成熟后从肝胰腺管壁中脱落 (图版 I: 4, 6 v), 进入管腔。F 细胞 (图版 I 5) 的主要特征是细胞质中具有丰富的粗面内质网 (er), 少量自噬泡 (v), 当 F 细胞中的自噬泡或消化泡逐渐增多, 并产生融合, F 细胞就开始向 B 细胞转化, 图版 I: 6 就是介于 F 和 B 细胞的中间类型细胞 (F/B)。B 细胞的主要特征是细胞质中形成一个大的空泡 (消化泡), 早期分化的 B 细胞的消化泡常含有密度较高的消化体 (dense digestive bodies) (图版 I 4), 随着这些物质的吸收, 整个大的消化泡会逐步变得透明, 以后整个细胞将从肝胰腺管壁中脱落。

当幼体暴露于 Zn^{2+} 浓度超过 $197.8 \mu\text{g/L}$ 环境时, 会对幼体的生长发育产生影响。对于蚤Ⅳ幼体, 当暴露 48 h 以后, 这种影响就会显著地表现出来。观察肝胰腺的超微结构, 这种影响主要是肝胰腺细胞的超微结构发生了破坏性地变化, 具体的影响如下: E 细胞质中出现了很多空泡 (图版 I 7), 这于正常 E 细胞的结构明显不同 (可能是胞质中线粒体肿胀、破裂形成的空泡), 从而使得 E 细胞的分化受到影响。在肝胰腺的管腔中常有含金属电子致密颗粒 [图版 II: 9、10、15 (↑)], 这些金属颗粒可能来源 B 细胞特征性空泡中的含金属电子致密颗粒 [图版 II: 9、10、11 (△)]。因为与对照组相比, 在 B 细胞的空泡中常可见许多大小和数量不等的这类颗粒。通常, 环境中 Zn^{2+} 浓度高的幼体肝胰腺中, B 细胞中电子致密颗粒要

高于低浓度的肝胰腺 B 细胞的数量 (图版 II: 9、10、11、13)。B 细胞中颗粒的形成原因, 可能先由 F 细胞通过微胞饮作用从管腔和血淋巴中吸收金属离子, 在内质网中不断聚集形成较大的电子致密颗粒 (图版 II: 16、17), 随后这些颗粒随着内质网囊泡的不断融合, 颗粒被不断集中于 B 细胞的大消化泡中 (图版 II: 10、11、13)。以后随着 B 细胞的成熟, 又从肝胰腺管壁中脱落, 这些颗粒就被释放到管腔中。无论存在于肝胰腺管腔 [图版 I 8 (↑)] 或 B 细胞空泡中 [图版 II 14 (△)] 的电子致密颗粒, 其外均有 1 层膜包被。而 R 细胞与对照组相比, 在细胞数量上大大低于对照组, 还常见到 R 细胞解体形成很多空泡, 甚至几乎整个细胞的细胞质都由空泡替代 (图版 II: 10、15 V), 因而失去了吸收和储存营养物质的功能。这时的 R 细胞结构, 由于细胞质被破坏, 在形态上非常类似 B 细胞, 但至少有两方面的区别: 第 1, 成熟 B 细胞的微绒毛很少或几乎完全脱落 (图版 II: 10、18), 而 R 细胞的微绒毛比较完整。第 2, 空泡中完全透明, 无电子致密颗粒。当环境中 Zn^{2+} 浓度过高, 达 $1031.8 \mu\text{g/L}$ 时, 整个肝胰腺的细胞遭到严重破坏, 几乎不能分辨出细胞的结构 (图版 II: 12、13)。

3 讨论

本实验证实当环境中 Zn^{2+} 超过 $200 \mu\text{g/L}$ 时, 对蚤Ⅳ幼体的生长产生较为严重的影响。对蚤Ⅳ肝胰腺的超微结构观察表明, 其毒理作用是通过破坏了肝胰腺 R 细胞和 E 细胞的正常结构, 从而使之失去了正常的生理功能, 过高含量的 Zn^{2+} 甚至会造成整个肝胰腺细胞结构被破坏。甲壳动物的急性毒理实验在 48~96 h, Zn^{2+} 半致死浓度一般在 $200 \sim 5000 \mu\text{g/L}$ (Leland 等, 1985), 中华绒螯蟹蚤Ⅳ处于此浓度范围的低极限, 说明此阶段的幼体对 Zn^{2+} 是十分敏感的。

Zn^{2+} 对肝胰腺结构的影响主要是破坏了肝胰腺 R 和 E 细胞的结构, 使其细胞结构空泡化。重金属造成组织表皮细胞的空泡化的情况, 在其他蟹类也发现过 (Nonnotte 等, 1993)。当环境中重金属微量元素离子较高时, 会造成吸收的重金属多于生物体需要的量。与此同时, 生物体一般都存在相应的解毒机制, 可以忍受一定范围的重金属污染。生物体细胞对吸收过多重金属的解毒机制不外乎:

①通过生物氧化和水解等,直接排泄出体外;②将毒性重金属转化成非毒性的不溶化合物积存于组织器官中。对于中华绒螯蟹幼体,本实验证实,其主要解毒机制应属于后者。因为幼体在暴露于 Zn 离子的环境中,肝胰腺 B 细胞中形成了数量不等的不可溶性被膜电子致密颗粒,且颗粒的多少与环境中 Zn^{2+} 含量密切相关。由于不溶颗粒较大,其外被膜,被 B 细胞分泌入管腔后,不能被肝胰腺细胞重新吸收,最终只能被排出体外,从而起到解毒作用。其他甲壳动物的解毒方式也类似,有学者还证实这种不可溶性电子致密颗粒是金属蛋白复合体(Icely 等, 1980, Roldan 等, 1987)。所以,甲壳动物的肝胰腺的 B 细胞不仅在肝胰腺的消化方面起重要作用(Al-Mohanna 等, 1986),而且在对重金属的解毒方面也起很大作用。

在正常肝胰腺的成熟 R 细胞中通常也可见一些电子致密颗粒(Hopkin 等, 1979; Becker 等, 1974; Stanier 等, 1968),但与 B 细胞不同的是, R 细胞中的电子致密颗粒外没有膜包被,且致密颗粒不均质,常形成同心圆的环状颗粒,主要由钙、镁及磷几种元素构成。细胞中这些颗粒的数量变化较大,常与所处的蜕皮阶段、营养状况密切相关,是肝胰腺储存钙的一种形式,以备在蜕皮后吸收的钙不能满足新壳钙化需求时利用。这与 R 细胞的主要功能即储存营养物质是一致的。

在动物体的肝和肾细胞中,普遍存在一种金属硫蛋白(metallothionein Mt),它对重金属离子有特异亲和性,是一种富含胱氨酸的含金属的可溶性蛋白质,与其结合的重金属是无毒的。很多陆生种类

的 Mt 的特性已搞清楚,也证实甲壳动物的肝胰腺中也普遍存在这种蛋白(Brouwer 等, 1986; Rainbow 等, 1979; Overnell, 1982)。长期以来, Mt 被认为是细胞内重金属解毒的主要方式,对此不少学者提出质疑。Engel (1987)证实 Mt 在蓝蟹(*Callinectes sapidus*)正常生长和蜕皮过程中,血蓝蛋白(含 Cu)和 Zn^{2+} 起非常积极的调节作用,并认为传统的将 Mt 作为动物细胞重金属解毒的一种主要方式的观点是错误的。其他学者的工作也支持这一观点(Cousins, 1985; Brouwer 等, 1986, Li 等, 1980)。因此,对甲壳动物来讲, Mt 的作用是作为有用的重金属(如铜和锌)的储存库。Mt 的合成很可能在 R 细胞中,这也是 R 细胞的功能所决定的。

甲壳动物在连续的生长阶段的解毒作用,后期阶段的个体要略高于前期,但差别不大。在对大眼幼体的实验中,大眼幼体可忍受 $1\ 000\ \mu\text{g/L Zn}^{2+}$ (王云龙等, 1999),其解毒作用显著高于溞 IV。这可能是由于:第 1,由于此阶段口器(大颚小颚和其他 6 对颚足)和消化道发育基本完全,代谢旺盛,肝胰腺的解毒能力增强;第 2,大眼幼体的渗透调节能力大大增加,可适应 0(淡水)~30 盐度的海水,这样的渗透应力会更加有效的阻滞对重金属的吸收。这些推测还需要进一步从细胞学研究角度加以证实。

致谢 上海水产大学 99 届本科生曹伟秋、雷全明参加了本实验的部分工作;本校电镜室周孝康、张敏老师也给予极大支持;谨此致谢。

图版说明

- 1-6. 对照组溞 IV 肝胰腺细胞结构(Zn^{2+} 浓度为 $36.8\ \mu\text{g/L}$) [ultra-structure of the zoea IV hepatopancreas of Chinese crab *Eriocheir sinensis* in control group ($36.8\ \mu\text{g/L Zn}^{2+}$)]
1. E 细胞,示核质比值高(embryonic E-cell, undifferentiated and have a high nuclear:cytoplasmic ratio) $\times 9\ 800$
2. E 细胞,线粒体(m)稀少而短以及细胞中少量具单细胞膜的空泡(v) (large spherical mitochondria with few cristae, a few single membrane bounded vacuoles) $\times 29\ 000$
3. R-细胞,示特征性 R 细胞顶端较为丰富的线粒体(m)和多聚核糖体(showing there are numerous mitochondria and abundant polyribosome in the apical region of the R cell) $\times 14\ 000$
4. R-R-B 细胞连接区域,示 B 细胞与 R 细胞的间隙连接和 B 细胞中特征性的空泡(the conjunction region of R-R-B, showing the gap junction between R cell and B cell and the large vacuoles in B cell) \times

14 000

5. F 细胞中丰富内质网和少量的线粒体(F-cell, were characterized by the extensive development of their rough endoplasmic reticulum) $\times 10\ 000$
6. F/B 细胞,示 B 细胞是由 F 细胞的很多分泌泡融合,最后形成一个特征性的大的空泡,空泡中无电子致密金属颗粒(F/B cell, showing the B cell, usually characterized by a single large vacuole, is from an F-cells which the small secretory vacuole have coalesced to form a single large vacuole, there are no electric dense metal granule in these vacuoles) $\times 10\ 000$
- 7-18. 环境中 Zn^{2+} 对河蟹幼体肝胰腺细胞结构的毒理作用(toxic effect of different content of Zn^{2+} on hepatopancreatic cells in the larvae of Chinese crab *Eriocheir sinensis*)
7. E 细胞,示胞质中大量出现的空泡(v) (E-cell, showing large amount

- of vacuoles occurred in cytoplasm) $\times 19\ 000$
8. 示管腔中电子致密颗粒(↑)由膜包被(showing the electric dense granule (EDG) in lumen capsulated by an membrane) $\times 36\ 000$
 9. 暴露于 Zn^{2+} 浓度为 $601.8\ \mu g/L$ 中的肝胰腺的 B 细胞, 示细胞空泡中的 EDG(△)和管腔中的 EDG(↑)(showing the EDG in vacuoles of B cells and in lumen in hepatopancreas of *Eriocheir sinensis* when exposed to $601.8\ \mu g/L\ Zn^{2+}$) $\times 14\ 000$
 10. 暴露于 Zn^{2+} 浓度为 $339.8\ \mu g/L$ 中的肝胰腺 B 细胞和 R 细胞, 示 B 细胞中空泡中少量的 EDG(△), 内质网囊泡中的 EDGs(△), 管腔中 EDG(↑), R 细胞质中出现的空泡(V)(showing the EDGs in Vacuoles, in the vesicular rough endoplasmic reticulum of B Cell and in lumen and the vacuoles appears in R-cell when exposed to $339.8\ \mu g/L\ Zn^{2+}$) $\times 7\ 200$
 11. 暴露于 Zn^{2+} 浓度为 $601.8\ \mu g/L$ 中的肝胰腺 B 细胞, 其空泡中含有大量的 EDG(△)正被排入管腔中(showing B Cell within the large amount EDGs in vacuoles is being extruded into the lumen of hepatopancreas when exposed to $601.8\ \mu g/L\ Zn^{2+}$) $\times 14\ 000$
 12. 暴露于 Zn^{2+} 浓度为 $1031.8\ \mu g/L$ 中的肝胰腺组织。肝胰腺组织被严重破坏, 几乎没有任何细胞结构(showing the hepatopancreatic tissue and cell were seriously destroyed, and almost no cellular structure can be found when exposed to $1031.8\ \mu g/L\ Zn^{2+}$) $\times 5\ 800$
 13. 暴露于 Zn^{2+} 浓度为 $1031.8\ \mu g/L$ 中的肝胰腺管腔的 B 细胞, 示 B 细胞中有大量的 EDGs(△)(b cell extruded from the epithelium, showing the large amount of EDGs in the cytoplasm when exposed to $1031.8\ \mu g/L\ Zn^{2+}$) $\times 4\ 800$
 14. 上图 B 细胞中 EDG 的放大, 示 EDG(△)由一层膜包被(high magnification of EDG in the B cell above, note a membrane capsulated the EDG) $\times 19\ 000$
 15. 示破坏的 R 细胞质中大的空泡(showing the ruptured R cell often characterized by the large vacuoles which was almost full of the cytoplasm of R cell when exposed to $601.8\ \mu g/L\ Zn^{2+}$) $\times 5\ 800$
 - 16 ~ 17. 示 F 细胞中 EDG(↑)形成(the process of EDG formation in F cells) $\times 19\ 000$
 18. B 细胞, 示大部分的微绒毛脱落(showing the loss of large amount of microvilli of B cell when exposed to $601.8\ \mu g/L\ Zn^{2+}$) $\times 36\ 000$
- mv: 微绒毛(microvilli); L: 管腔(lumen); m: 线粒体(mitochondria); N: 细胞核(nucleus); er: 内质网(endoplasmic reticulum); v: 空(囊)泡(vacuole); R: R 细胞(R-cell); F: F 细胞(F-cell); B: B 细胞(B-cell); E: E 细胞(E-cell)

参 考 文 献

- 王云龙, 成永旭, 徐兆礼等, 1999. 长江口疏浚土悬浮物及其溶出 Zn^{2+} 对中华绒螯蟹产卵率和早期发育的影响[J]. 中国水产科学, 6(5): 24 ~ 28. [Wang Y L, Cheng Y X, Xu Z L et al, 1999. Effects of suspended dredging sediment and its dissolved Zn^{2+} on the spawn and early development of Chinese crab *Eriocheir sinensis* in the Changjiang estuary. J. Fish. Sci. China, 6(5): 24 ~ 28.]
- Al-Mohanna S Y, Nott J A, 1986. B-cells and digestion in the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus* [J]. J. Mar. Biol. Ass. U. K., 66: 403 ~ 414.
- Becker G L, Chen C H, Greenawalt J W et al, 1974. Calcium phosphate granules in the hepatopancreas of the blue crab *Callinectes sapidus* [J]. J. Cell Biol., 61: 316 ~ 326
- Brouwer M, Whaling P, Engel D W, 1986. Copper-metallthioneins in the American lobster *Homarus americanus*; potential role as Cu (II) donors to apohemocyanin [J]. Environ. Health Perspect., 65: 93 ~ 100.
- Cousins R J, 1985. Absorption, transport and hepatic metabolism of copper and zinc; special reference to metallothionein and ceruloplasmin [J]. Physiol. Rev., 65: 238 ~ 309
- Engel D W, 1987. Metal regulation and molting in the blue crab *Callinectes sapidus*; Copper, zinc, and metallothionein [J]. Biol. Bull., 172: 69 ~ 82.
- Hopkin S P, Nott J A, 1979. Some observations on concentrically structured, intracellular granules in the hepatopancreas of the shore crab *Carcinus maenas* [J]. J. Mar. Biol. Ass. U. K., 59: 867 ~ 877.
- Icely J D, Nott J A, 1980. Accumulation of copper within the hepatopancreatic caeca of *Corphium rotulator* (Crustacea: Amphipoda) [J]. Marine Biology, 57: 193 ~ 199.
- Li T Y, Karamer A J, Shaw C F et al, 1980. Ligand substitution reactions of metallothionein with EDTA and apo-carbonic anhydrase [J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 77: 6334 ~ 6338.
- Legand H M, Kuwabara J S, 1985. Trace metals [A]. In: Fundamentals of aquatic toxicology, Ed: Rand G. M. and S. Petrocell. Hemisphere publishing corporation [M]. Washington, New York. 373 ~ 415.
- Nonotte L, Bontel F, Truchot J P, 1993. Waterborne copper causes gill damage and hemolymph hypoxia in the shore crab *Carcinus maenas* [J]. Canadian Journal of Zoology, 71: 1569 ~ 1576.
- Overnell J, 1982. Copper metabolism in crabs and metallothionein; in vivo effect of copper on soluble hepatopancreas metal binding component in the crab *Cancer pagurus* containing various amounts of cadmium [J]. Comp. Biochem. Physiol., 73B: 555 ~ 564.
- Rainbow P S, Scott A G, 1979. Two heavy metal-binding protein in the midgut gland of the crab *Carcinus maenas* [J]. Marine Biology, 55: 143 ~ 150.
- Roldan B M, Shivers R R, 1987. The uptake and storage of iron and lead in cells of the crayfish, *Orconectes propinquus*, hepatopancreas and antenna gland [J]. Comp. Biochem. Physiol., 86c: 201 ~ 214.
- Stanier J E, Woodhouse M A, Griffin R L, 1968. The fine structure of the hepatopancreas of *Carcinus maenas* [J]. Crustaceana, 14: 56 ~ 66.
- Saager P M, De H J, Baar W et al, 1997. Hydrography and local sources of dissolved trace metals Mn, Ni, Cu, and Cd in the northeast Atlantic Ocean [J]. Marine Chemistry, 57: 195 ~ 216.
- Wong C K, 1993. Effects of cadmium, copper, nickel, and zinc on longevity and reproduction of the cladoceran *Moina macrocopa* [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 50: 633 ~ 639.

ULTRASTRUCTURAL STUDY OF THE TOXIC EFFECT OF DIFFERENT CONTENT OF Zn^{2+} ON HEPATOPANCREAS IN THE LARVAE OF CHINESE CRAB, *Eriocheir sinensis*

CHENG Yong-Xu

(Shanghai Fisheries University, Key Lab. of Agriculture Ministry in Aquatic Physiology-ecology Shanghai 200090 yxcheng@shfu.edu.cn)

XU Zhao-Li CHEN Ya-Qu

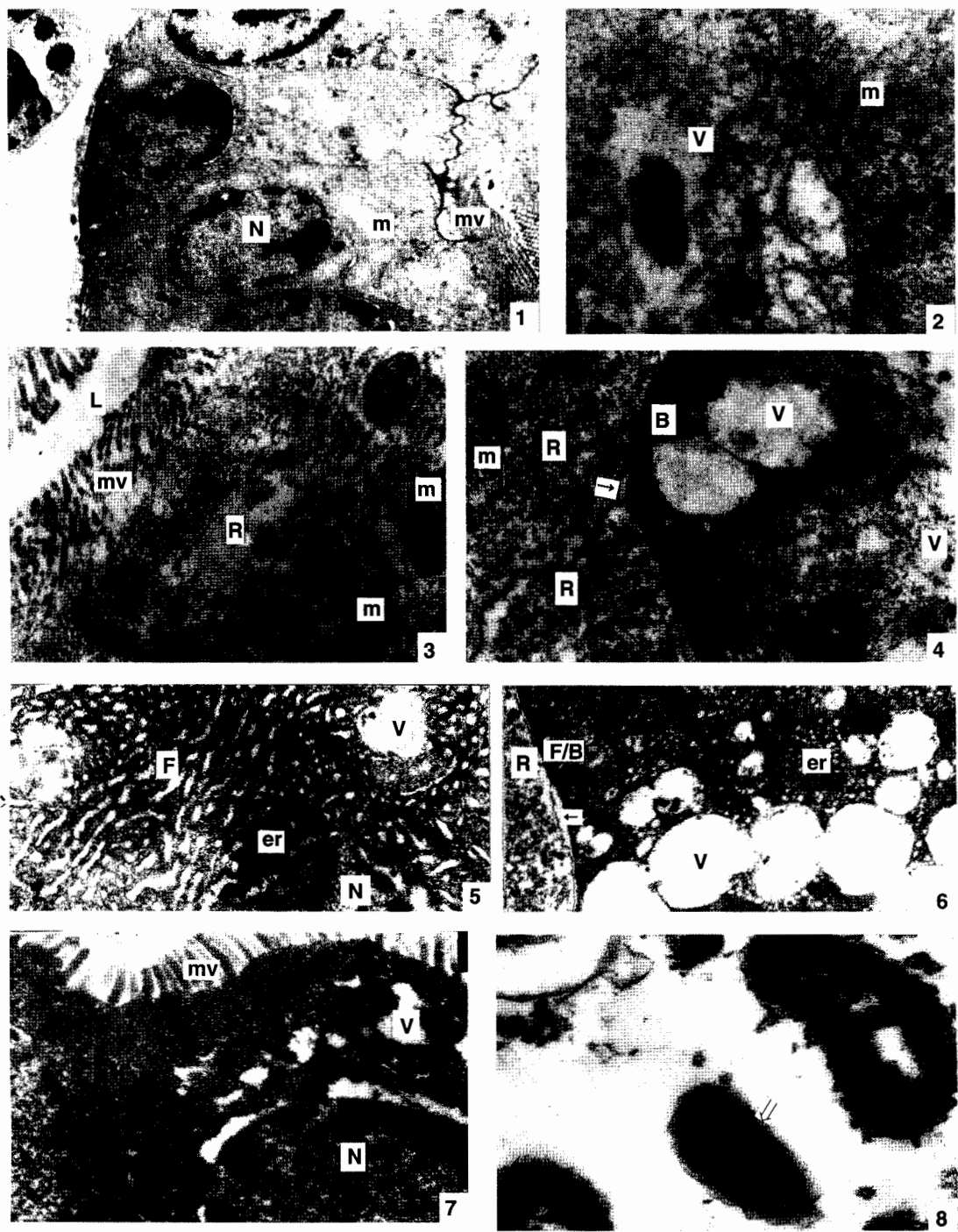
(East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Shanghai 200090)

Abstract: The impact of different concentrations of Zn^{2+} on the ultrastructure of hepatopancreas in larval (zoea IV) of Chinese crab, *Eriocheir sinensis* was studied after being exposed for 96 h by using transmission electronic microscope. The result demonstrated that significant ultrastructural changes, which occurred in hepatopancreas cells, were found after exposed above $200 \mu\text{g/L } Zn^{2+}$. When compared with control group ($31.8 \mu\text{g/L } Zn^{2+}$). B cells have numerous vacuoles or a large vacuole with a number of insoluble Zn electronic dense granules (EDG) in membrane-lined types. When the mature B cells are extruded from the epithelium of the hepatopancreas tubules, these EDGs in vacuole will be released as the vacuoles which have burst. The EDGs will be found in the lumen. The production of EDGs in the lumen and the vacuole of B cell have been correlated directly with the ambient concentration of Zn^{2+} . The EDGs in lumen then may be removed via the gut and excreted directly to outside and they are in-

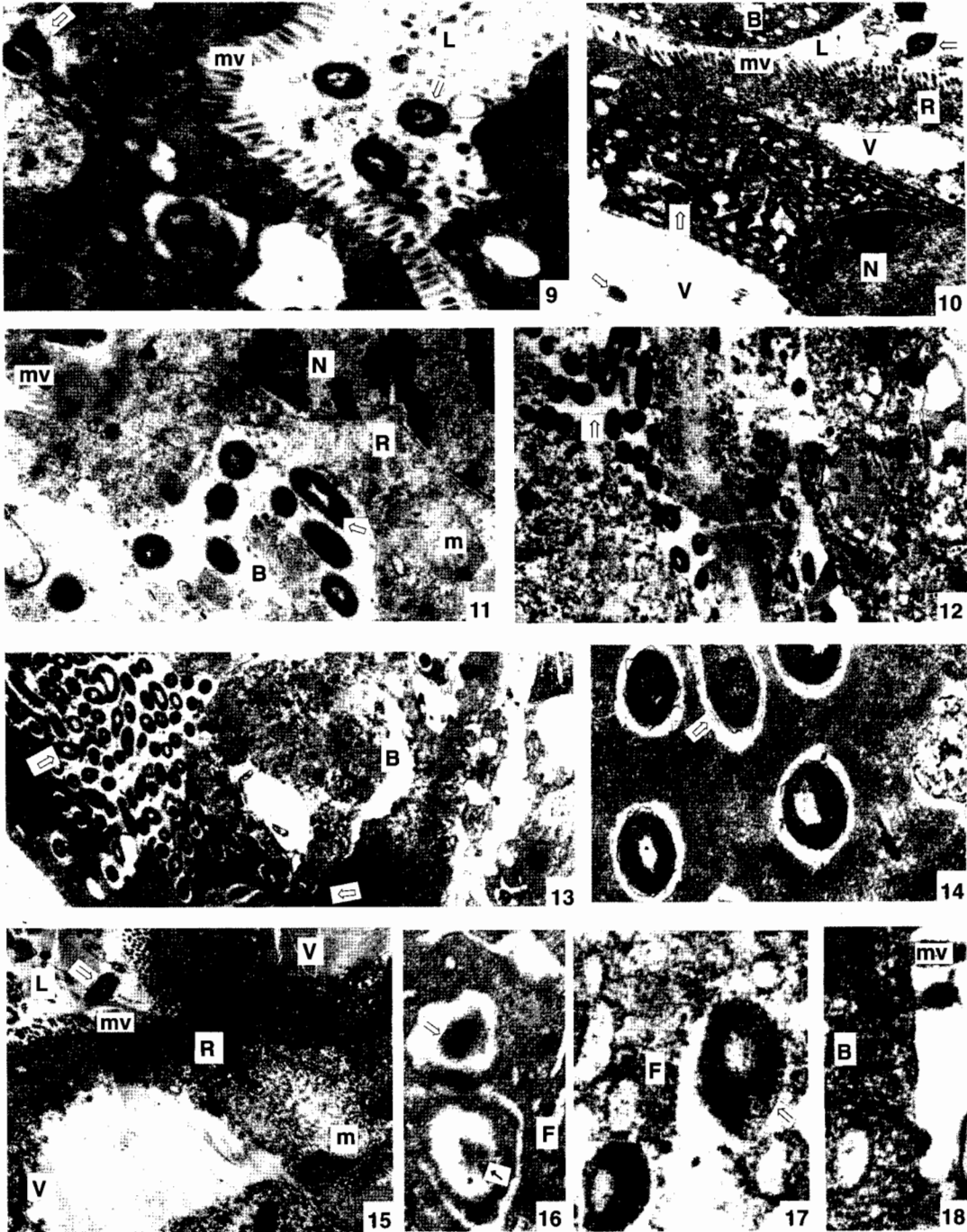
soluble. The cytoplasm of R cells are often disorganized, vacuolized and form large vacuoles. The R cell are seriously damaged. The cytoplasm of E cell have large amount of vacuoles, which may be resulted from the degeneration of swollen mitochondrion. This shows that the E cells have lost their ability to differentiate to other cells. When the concentration of Zn^{2+} is high ($1031.8 \mu\text{g/L } Zn^{2+}$), the structure of hepatopancreas will be seriously destroyed and no cell structure can be found.

This observation suggested that formation of EDG in B cells was an important cellular detoxifying mechanism, in which Zn^{2+} or other heavy metal were incorporated into intracellular insoluble form (may be metal-protein complexes). These are harmless to the tissue and cell. Pathological effects occur in tissues when the rate of influx of a toxicant, such as Zn^{2+} , exceeds rate of detoxification and excretion. In this experiment, the effect was found to be the damage of R and E cell, even the all cells in hepatopancreas.

Key words: *Eriocheir sinensis*; Larvae; Zn^{2+} ; Toxicity; Ultrastructure; Hepatopancreas



图版说明在正文内(explanation in the text)



图版说明在正文内(explanation in the text)